

63522例新生儿耳聋易感基因流行病学探究与分析

郑慧, 李媛, 赵国静, 张俊青, 吴仁花*

天津华大医学检验所有限公司, 天津 300308

DOI:10.61369/MRP.2025080017

摘 要 : 目的: 采用高通量测序技术对63522名新生儿进行听力障碍相关基因的广泛检测, 旨在探究这些新生儿中遗传性听力损失基因的变异频次及其多样性。方法: 选取天津华大基因医学检验所2020年1月至2024年10月期间检测的华北地区63522例新生儿样本, 采用高通量测序技术对包括GJB2、SLC26A4、GJB3等在内的24个耳聋相关基因上208个致病变异位点进行筛查分析。结果: 总体阳性检出率为11.4% (7238/63522), 单一基因变异检出率为11.02% (6999/63522)。双重基因变异检出率为0.37% (234/63522), 多基因同时发生变异检出率为0.01% (5/63522)。在基因检测中, GJB2基因变异率高达7.24% (4597/63522)。其次, SLC26A4基因变异率为2.32% (1472/63522)。MT-RNR1基因变异率为0.93% (589/63522)。GJB3基因变异率为0.33% (212/63522)。TMPRSS3基因变异率为0.13% (83/63522)。USH2A基因变异率0.03% (18/63522)。OTOF基因变异率为0.01% (7/63522)。在众多基因突变中, GJB2与SLC26A4共同变异占据了首要位置, 高达114例, 占比为0.18%。其次, GJB2与MT-RNR1组合的变异有45例。MT-RNR1与SLC26A4的联合变异则有23例。另外, GJB2与GJB3的变异例数为22例, 而TMPRSS3与GJB2的复合变异有9例。检测结果显示, 检出频率最高的三个变异位点依次为: c.109G>A, 共2758例, 占总数的4.34%; c.235delC, 共计1209例, 占比1.91%; 以及c.919-2A>G, 有836例, 占比达到1.32%。结论: 华北地区新生儿听力基因损失变异率居前三位的是GJB2、SLC26A4、MT-RNR1, 其关键突变点集中于c.109G>A、c.235delC和c.919-2A>G。各地对新生儿听力损失相关基因的检测标准不尽相同, 伴随着基因测序技术的迅猛进步及费用减少, 采用更为全面的筛查策略将助力于识别更多的隐性遗传变异携带个体。

关 键 词 : 耳聋基因; 基因筛查; 扩展型

Epidemiological Investigation and Analysis of Deafness Susceptibility Genes in 63,522 Newborns High-Throughput Sequencing Technology

Zheng Hui, Li Yuan, Zhao Guojing, Zhang Junqing, Wu Renhua*

Tianjin Huada Medical Laboratory Co., Ltd., Tianjin 300308

Abstract : Objective: To conduct a detection of genes related to hearing loss in 63,522 newborns using high-throughput sequencing technology, aiming to investigate the frequency and diversity of genetic variants with inherited hearing loss among these newborns. Methods: Samples of 63,522 newborns from North China were selected for testing at Tianjin Hu Gene Medical Laboratory between January 2020 and October 2024. A total of 208 pathogenic variant sites in 24 deafness- genes, including GJB2, SLC26A4, GJB3, etc., were screened and analyzed using high-throughput sequencing technology. Results: The overall detection rate was 11.4% (7,238/63,522), with a single gene variant detection rate of 11.2% (6,999/63,522). The detection rate of dual gene variants was 0.37% (234/6,522), and the detection rate of multiple genes with simultaneous variants was 0.01% (5/63,522). In gene, the mutation rate of GJB2 gene was as high as 7.24% (4,597/63,522). Followed the SLC26A4 gene mutation rate of 2.32% (1,472/63,522). MT-RNR1 mutation rate was 0.93% (589/63,522). The mutation rate of GJB3 gene was 0.33 (212/63,522). TMPRSS3 gene mutation rate was 0.13% (83/63,522). USH2A gene mutation rate was 0.03% (18/63,522). OTOF gene mutation rate was 0.01% (7/63,522). Among the numerous gene mutations, the combined mutation of GJB2 and SLC26A4 accounted for first place, with as many as 114 cases, accounting for 0.18%. The combination of GJB2 and MT-RNR1 variants had 45 cases. The combined variant of MT-RNR1 and SLC26A4 had 23 cases. In addition, the variant number of GJB2 and GJB3 was 22 cases, and the composite variant of TMPRSS3 and GJB2 was 9 cases. The results of the detection showed that the three variant with the highest detection frequency were c.109G>A, with a total of 2,758 cases, accounting for 4.34%; c.235delC, with a total of 1,209

cases, accounting for 1.91%; and c.919-2A>, with 836 cases, accounting for 1.32%. Conclusion: The top three genes with hearing loss variants in newborns in North China were GJB, SLC26A4, and MT-RNR1, and their key mutation points were concentrated in c.109G>A, c.23delC, and c.919-2A>G. The detection standards for genes related to neonatal hearing loss vary from place to place. With the rapid advancement gene sequencing technology and the reduction in cost, the adoption of more comprehensive screening strategies will help identify more carriers of recessive genetic variants.

Keywords : deafness gene; gene screening; expanded type

根据全球健康数据,我国听力受损的病患人数位居世界之首,听力受损者占全部残疾人的比重高达33.51%^[1],显著高于其他如肢体或智力障碍的类别。在众多听力受损病例中,遗传因素占50%至60%。在新生儿群体中,先天性耳聋的发生率在1‰至3.47‰^[2]。遗传性耳聋是一种典型的单基因遗传病,具有高度的遗传异质性,目前已确认至少有200个耳聋相关基因(截至2024年5月19日,数据来源:https://hereditaryhearingloss.org)。涵盖核内基因与线粒体基因等诸多致病基因,其遗传方式涉及常染色体隐性、常染色体显性、线粒体以及性染色体关联遗传。因此,实施针对新生儿的耳聋基因检测,在预防及管理遗传性听力丧失方面扮演着不可或缺的角色。本研究对华北地区63522例新生儿检测了24个与耳聋相关基因中的208个位点,以期通过早期识别、诊断与治疗,有效降低耳聋病症的发生率。

一、对象与方法

(一) 研究对象

选取2020年1月至2024年10月天津华大医学检验所耳聋基因检测组检测的63522例样本。

(二) 新生儿耳聋基因筛查方法

1. 采血方法

采用新生儿足跟血,遵循《新生儿疾病筛查技术操作规范》(2019修订版)采集两个以上干血斑样本,独立封存于生物安全袋。

2. 提取 DNA

采用自动化打孔设备打孔3毫米的干血斑片样本,采用华大生物科技核酸提取试剂盒提取 DNA。

3. 基因检测

本研究运用华大智造的联合探针锚定聚合测序技术,针对24个遗传性耳聋相关基因的208个位点进行筛查。通过设计特异性引物,结合多重 PCR 技术扩增目标基因组 DNA 序列,并引入样本标签以便精准识别。借助 MGISEQ-2000测序仪获取序列信息,通过标签序列比对拆分,确保每个样本的测序结果精准定位。最终将数据与人类参考基因组进行比对,以解析耳聋相关基因的变异情况。

二、结果

(一) 通过对63522例新生儿进行筛查,发现共有7238例至少携带一种耳聋易感基因,总体阳性率为11.4%。

其中,基因变异携带率从高到低依次为 GJB2、SLC26A4、MT-RNR1、GJB3等,见表1。其中,GJB2基因突变4597例,变异率是7.24%,其中杂合突变4495例,变异率是7.08%;复合杂合58例,变异率是0.09%,纯合突变44例,变异率是0.07%。GJB2的 c.109G>A 和 c.235delC 位点单基因杂合突变分别是2720例和1203例。携带 c.109G>A 位点和 c.235delC 位点的单基因纯合突变分别是38例和6例。

SLC26A4基因突变1472例,变异率为2.32%。其中杂合突变1454例,变异率是2.29%;复合杂合突变11例,变异率是0.02%;纯合突变7例,变异率0.01%。其中单基因杂合突变位点变异 c.919-2A>G、c.2168A>G、c.1975G>C、c.1174A>T、c.1229C>T、c.1226G>A 分别是836、175、86、55、50、36例。

MT-RNR1单基因变异共发现589例,变异率为0.93%。其中同质突变569例,异质突变20例。m.1095T>C 位点变异424例,m.1555A>G 位点变异157例,m.1494C>T 位点变异8例。

GJB3单基因杂合突变212例,总变异率为0.33%,其中 c.538C>T 变异181例(变异率 0.28%),c.547G>A 变异例数31例(变异率 0.05%)。

表1 7238例携带者变异基因型

突变基因	突变类型	突变人数 (例)	阳性率 (%)
GJB2	杂合突变	4495	7.08%
	纯合突变	44	0.07%
SLC26A4	杂合突变	1454	2.29%
	纯合突变	7	0.01%
MT-RNR1	同质突变	569	0.90%
	异质突变	20	0.03%
GJB3	杂合突变	212	0.33%
GJB2/ SLC26A4	杂合突变 / 杂合突变	112	0.18%
	纯合突变 / 杂合突变	2	/
TMPRSS3	杂合突变	83	0.13%
GJB2/GJB2	杂合突变	58	0.09%
GJB2/MT- RNR1	杂合突变 / 同质突变	44	0.07%
	纯合突变 / 同质突变	1	/
MT-RNR1/ SLC26A4	同质突变 / 杂合突变	22	0.03%
	异质突变 / 杂合突变	1	/
GJB2/GJB3	杂合突变 / 杂合突变	22	0.03%

USH2A	杂合突变	18	0.03%
SLC26A4/ SLC26A4	杂合突变 / 杂合突变	11	0.02%
TMPRSS3/ GJB2	杂合突变 / 杂合突变	8	0.01%
	杂合突变 / 纯合突变	1	/
GJB3/ SLC26A4	杂合突变 / 杂合突变	8	0.01%
OTOF	杂合突变	7	0.01%
MYO15A	杂合突变	4	/
MYO7A	杂合突变	4	/
GJB3/MT- RNR1	杂合突变 / 同质突变	3	/
MARVELD2	杂合突变	3	/
LRTOMT	杂合突变	3	/
GJB2/MT- RNR1/ SLC26A4	杂合突变 / 同质突变 / 杂合突变	3	/
PCDH15	杂合突变	2	/
SLC26A4/ TMPRSS3	杂合突变 / 杂合突变	2	/
DFNA5	杂合突变	2	/
GJB2/GJB2/ SLC26A4	杂合突变 / 杂合突变 / 杂合突变	2	/
GJB2/GJB3/ MT-RNR1	杂合突变 / 杂合突变 / 同质突变	1	/
GJB2/ OTOA	杂合突变 / 杂合突变	1	/
GJB2/OTOF	杂合突变 / 杂合突变	1	/
GJB2/ USH2A	杂合突变 / 杂合突变	1	/
GJB3/MT- RNR1/ SLC26A4	杂合突变 / 同质突变 / 杂合突变	1	/
LRTOMT/ GJB2	杂合突变 / 杂合突变	1	/
MT-RNR1/ TMPRSS3	同质突变 / 杂合突变	1	/
MYO7A/ GJB3	杂合突变 / 杂合突变	1	/
OTOA	杂合突变	1	/
TMC1	杂合突变	1	/
USH1C	杂合突变	1	/
Total		7238	

（二）除上述四个热点基因外，本研究还发现尤塞氏（Usher）综合征相关的USH2A基因（c.99_100insT）单基因杂合突变携带者18例、MYO7A基因（c.3719G>A）单基因杂合突变携带者4例、USH1C基因c.496+1G>A单基因杂合突变携带者1例；

非综合征型耳聋相关的OTOA基因（c.306delG）1

例、TMPRSS3基因（c.916G>A）83例、OTOF基因（c.2977_2978delAG）7例、MARVELD2基因（c.858dupT）3例、LRTOMT基因（c.655C>T）3例、MYO15A基因（c.9690+1G>A）4例，共101例单基因杂合突变携带者，以及DFNA5基因（c.991-15_991-13delTTC）常染色体显性基因杂合突变携带者2例。

（三）本项研究发现917例母系遗传和常染色体显性遗传的耳聋基因变异病例，占总样本的1.44%（917/63522），见表2。

携带m.1095T>C、m.1555A>G、m.1494C>T这三个位点变异的个体分别为479例、179例和8例，总计666例；携带c.538C>T、c.547G>A这两个位点变异的个体分别为213例和35例，总计248例；携带c.991-15_991-13delTTC位点变异的有2例；携带c.223C>T位点变异的有1例。

表2 显性遗传和母系遗传

基因	核苷酸变化	遗传方式	变异数量
MT-RNR1	m.1095T>C	母系遗传	479
MT-RNR1	m.1555A>G	母系遗传	179
MT-RNR1	m.1494C>T	母系遗传	8
GJB3	c.538C>T	常染色体显性遗传	213
GJB3	c.547G>A	常染色体显性遗传	35
DFNA5	c.991 - 15_991 - 13delTTC	常染色体显性遗传	2
GJB2	c.223C>T	常染色体显性遗传	1
Total			917

三、讨论

目前，一种基于电生理学原理的新生儿听力检测方法被世界各地广泛运用。然而，此类技术对周遭环境的敏感性较高，对于发现迟发性耳聋以及药物导致的耳聋的并不理想。著名学者王秋菊^[3]提出，整合听力与基因检测，主要针对那些在语言形成初期便遭受听力损害、听力损失迟发显现或携带耳聋相关基因的个体，辅以周期性的复查与监控，构建了当前最为有效的筛查手段。

本研究对华北地区63522例样本进行24基因208个位点检测发现耳聋基因变异携带者占比11.4%（7238/63522）。比率明显高于其他多个城市检测携带者比率，如苏州^[4]5.57%、北京4.57%^[5]，天津5.52%^[6]，淮北市6.13%^[7]，原因可能是相较于上述地区筛查的4基因9位点或20位点，本研究扩展筛查基因和位点的范围至24基因208个位点，能够发现更多常规筛查未覆盖的耳聋基因变异携带者，致耳聋基因变异携带者比率增高。

本研究中，GJB2基因突变（如c.109G>A）占比最高（81.19%），其机制可能与Cx26蛋白功能异常导致的钾离子代谢紊乱相关。目前已鉴定出超过100个与耳聋相关的等位基因。比如，在北美人群中，GJB2基因的c.176del16变异占2%，是导致GJB2相关听力损失的主要变异，占比高达80%^[8]；在非洲人群中，c.299delAT变异占1.5%^[9]。本研究发现在3397名GJB2基因携带

者中, 81.19% (2758/3397) 携带 GJB2 基因的 c.109G>A 位点变异。c.109G>A 变异的携带率为 4.34% (2758/63522), 这与我国汉族人群中 2.8% 至 8.2%^[10] 的携带率相符, 在华北地区新生儿中, GJB2 基因的 c.109G>A 变异具有较高的携带率。该变异属于非截短性变异, 主要通过影响单个或多个氨基酸发挥作用, 通常导致症状较轻且外显率较低。研究显示, 约 20% 的携带者可能出现迟发性听力损失。揭示其实际携带情况可能被低估。因此, 对于 GJB2 基因突变的携带者, 尤其是 c.109G>A 变异的携带者, 进行遗传咨询和听力监测非常关键, 有助于耳聋的早期识别和预防。

本研究通过扩展型听力基因筛查, 识别出 589(0.93%) 个个体携带有线粒体 MT-RNR1 基因变异。线粒体 MT-RNR1 基因的变异通过母系遗传, 携带此变异的儿童及其母系亲属对药物性耳聋极为敏感, 即使是很小的或标准的氨基糖苷类抗生素剂量也有可能引起严重的听力下降。此外, 线粒体基因相关的耳聋不仅可能由药物引起, 还可能在没有药物接触的情况下, 在成年后自发出现, 被视为一种独立的非综合征性耳聋。线粒体 MT-RNR1 基因变异通过母系遗传, 携带者对氨基糖苷类药物敏感(《新生儿遗传性耳聋基因筛查指导意见》, 2020), 一旦检测到线粒体 MT-RNR1 基因变异, 无论其为同质性还是异质性, 都必须告知受检者及其母系家族成员其具有极高的药物性耳聋风险, 并建议他们终生避免使用此类药物。本研究还检测到 1461 (2.30%) 个个体携带有 SLC26A4 基因突变, SLC26A4 基因变异是一种常染色体隐

性遗传病, 导致大前庭水管综合征, 其特点是扩大的前庭水管, 增加了患者迟发性听力损失的风险。建议患者避免跌倒和头部受伤。对于还保留一些残余听力的儿童, 助听器是一个合适的选择, 而对于听力损失较严重的儿童, 人工耳蜗植入是一个可考虑的治疗选项。增加以上两种基因筛查能有效预警耳聋发生风险。

非综合征性常染色体显性遗传性听力损失 (DFNA) 作为迟发性听力减退的主要表现形式之一, 在遗传性听力障碍中占有重要地位。在本研究中, 检测出 2 例 DFNA5 基因中的 c.991-15_991-13delTTC 位点突变, 这种突变是由于在 DFNA5 基因的内含子 7 中的多嘧啶区域发生了 3 个碱基对的缺失, 导致了剪接异常, 进而产生了一个持续活跃的截短蛋白, 最终引发听力损失。DFNA5 基因变异的识别不仅突显了扩大基因筛查范围的重要性, 也体现了全面覆盖迟发性听力损失筛查的必要性。针对明确为常染色体显性遗传模式的听力损失患者及其亲属, 开展深入的遗传咨询极为必要。建议此类人群在计划再次生育时, 先行进行耳聋基因检测, 以更好地评估遗传风险。

综上所述, 本研究通过对华北地区新生儿耳聋易感基因分子流行病学调查为耳聋预防和控制提供详实数据。同时提示, 对于携带耳聋易感基因的个体, 进行耳聋易感基因的扩大筛查十分必要, 可识别迟发性和药物性耳聋潜在风险、降低耳聋发生率和推迟耳聋发病进程。

参考文献

[1] 纪钢. 第二次全国残疾人抽样调查主要数据公报 (第二号)[J]. 中国残疾人, 2007(6):2.

[2] 中国耳聋基因筛查与诊断临床多中心研究协作组, 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会, 中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会. 中国耳聋基因诊断与遗传咨询临床实践指南(2023)[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2023, 58(1): 3-14.

[3] 王秋菊, 赵亚丽, 兰兰, 等. 新生儿耳聋基因筛查实施方案与策略研究 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 42(11): 809-813.

[4] 凡雨星, 高红琴, 潘虹, 等. 苏州市高新区 12211 名新生儿常见遗传性耳聋基因突变特点分析 [J]. 中国公共卫生, 2024, 40(2): 194-198.

[5] 阮宇, 文斌, 赵雪雷, 等. 75649 例新生儿耳聋基因筛查及确诊者随访结果分析 [J]. 中华耳科学杂志, 2019, 17(5): 661-669.

[6] Zhang JQ, Wang P, Han B, et al. Newborn hearing concurrent genetic screening for hearing impairment-A clinical practice in 58,397 neonates in Tianjin, China[J]. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology, 2013, 77(12): 1929-1935.

[7] 张玲, 钟辉, 化金金. 淮北市听力筛查异常婴幼儿耳聋易感基因筛查特点分析 [J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2023, 30(7): 461-463.

[8] Putcha G V, Bejjani B A, Bleoo S, et al. A multicenter study of the frequency and distribution of GJB2 and GJB6 mutations in a large North American cohort[J]. Genet Med, 2007, 9(7): 413-426.

[9] Kabahuma R I, Ouyang X, Du L, et al. Absence of GJB2 gene mutations, the GJB6 deletion(GJB6-D13S1830) and four common mitochondrial mutations in nonsyndromic genetic hearing loss in a South African population[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2011 May, 75(5): 657-661.

[10] 于一丁, 黄丽辉, 赵雪雷, 等. GJB2 基因 p.V37I 变异致病机制研究进展 [J]. 国际耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020, 44(6): 338.